# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP04/014318

International filing date: 16 December 2004 (16.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE

Number: 103 59 734.4

Filing date: 19 December 2003 (19.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 18 January 2005 (18.01.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in

compliance with Rule 17.1(a) or (b)



# BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



# Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen:

103 59 734.4

**Anmeldetag:** 

19. Dezember 2003

Anmelder/Inhaber:

Carl Zeiss Jena GmbH, 07745 Jena/DE

Bezeichnung:

Verfahren zur Scanneransteuerung in mindestens einer Scanachse in einem Laser-Scanning-Mikroskop

IPC:

G 02 B 21/00

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

> München, den 23. Dezember 2004 **Deutsches Patent- und Markenamt** Der Präsident

Im Auftrag

A 9161

### Verfahren zur Scanneransteuerung in mindestens einer Scanachse in einem Laser-Scanning-Mikroskop

Verfahren zur Scanneransteuerung in einem Laser-Scanning-Mikroskop sind beispielsweise in DE 19702752 C2 beschrieben.

Trotz Kalibrierung (beispielsweise durch ein linearisiertes elektrisches Signal) der Scanner kommt es zur Ausfransung vertikaler Linien durch Phasenunterschiede zwischen Hin- und Rückscan (bidirektionale Abweichungen bidir), bedingt durch:

- 1. Langzeitveränderungen der Scannerresponse
- 2. Temperatur-/belastungs- bedingte Schwankungen
- 3. Zoomabhängigkeit der Scannerresponse

Dies soll durch die Erfindung verbessert werden.

Diese Aufgabe wird durch die Merkmale des Anspruchs 1 gelöst.

Bevorzugte Weiterbildungen sind Gegenstand der abhängigen Ansprüche.

Der Erfindung liegt die Idee zugrunde, eine Auswertung jedes Scanbildes durchzuführen, indem dieses auf bidirektionale Abweichungen untersucht wird und eine kontinuierliche Korrektur der Koeffizienten zur Scanneransteuerung während des Mikroskopbetriebs (z.B. zwischen den Scans) durchzuführen.

Die Erfindung wird im weiteren anhand der schematischen Darstellungen näher erläutert. Fig.1 zeigt ein Laser Scanning Mikroskop LSM mit einem Scanmodul SC und einem Detektionsmodul DE.

Weitere Einzelheiten sind beispielsweise aus DE 19702753 A1 bekannt. Über eine Ansteuereinheit AS, beispielsweise einen Echtzeitrechner, erfolgt eine Ansteuerung von SC und DE sowie die Rückkopplung der Erfassung des Ansteuerzustandes.

AS ist mit einem PC als Schnittstelle für den Anwender verbunden.

Die erfindungsgemäße Bildauswertung und Änderung der Ansteuerdaten für den Scanner kann im Echtzeitrechner oder im PC erfolgen.

In Fig.2 ist beispielhaft das Grundprinzip dargestellt.

Hier sind anhand einer gescannten Kreuzgitterprobe mit Gitterstreifen GS die Teilbilder B1, B2 für den Hin- und Rückscan dargestellt, in Fig. 2 a in X – Scanner Richtung und in Fig. 2b in Y – Scanner – Richtung.

Die Teilbilder B1, B2 werden jeweils zueinander versetzt und zueinander korreliert, d.h. durch Verschiebung zur Deckung gebracht und die Korrekturwerte ermittelt.

In Fig. 3 ist dargestellt, daß die Schnittrichtung streifenförmiger Teilbilder Bs zur Ermittlung des Fehlers des X-Scanners senkrecht zur X Richtung, d.h. in Y Richtung erfolgt (nicht gedrehter Scan).

Da der Y Scanner zwischen den Scanzeilen ruht, ist hier eine Ermittlung des Fehlers in Y Richtung nicht möglich.

Eine detaillierte Auswertung der durch die Zeilenbewegung der Scanner verursachten Bildverzerrungen ist möglich, wenn man das Bild senkrecht zu den Scanzeilen in Streifen schneidet und jeden Streifen für sich auswertet. In der Summe erhält man dann den Verlauf der bidirektionalen Abweichungen innerhalb einer Scanzeile. Die Kenntnis dieses Verlaufs ermöglicht eine bessere Korrektur als eine einfache, über das ganze Bild konstante, Verschiebung zwischen Hin- und Rückzeile.

#### Variante nicht gedrehter Scan

Das bedeutet, das einer der Scanner als schneller Zeilenscanner (im Weiteren als X-Scanner bezeichnet) arbeitet und der andere Scanner als langsamer Zeilenscanner (im Weiteren als Y-Scanner bezeichnet). Der Y-Scanner springt vorteilhafterweise während der Umkehrphasen des X-Scanners von Zeile zu Zeile (Zeilenvorschub) und ruht während der eigentlichen Datenerfassung. Im Weiteren wird diese Drehrichtung des Scans als 0° Scanwinkel bezeichnet.

Die Schnittrichtung für die Streifen ist parallel zum Bildrand und für 0° Scanwinkel auch parallel zur Y Richtung.

Die Verschieberichtung zur Ermittlung des Fehlers des X-Scanners ist parallel zur Scanrichtung des X-Scanners, d.h. die beiden Teilbilder der geraden und ungeraden Scanzeilen (Hin- und Rückscan) werden zueinander entlang der Richtung im Bild verschoben, die durch Bewegung des X-Scanners vorgegeben ist, d.h. beim 0°-Scan parallel zu den Scanzeilen.

Eine Ermittlung des Fehlers des Y-Scanners ist beim 0° Scan nicht möglich (Y-Scanner ruht während der Scanzeilen).

Fig. 4 zeigt den Fall eines gedrehten Scans (Scanwinkel ungleich 0°, 180°, 90° und -90°). In diesem Fall arbeiten beide Scanner synchron als Zeilenscanner. Zwischen den Scanzeilen springen beide Scanner vorteilhafterweise während der Umkehrzeiten beider Scanner zur nächsten Zeile. Durch die Einstellung der Scanamplituden beider Scanner wird der Scanwinkel eingestellt (Orientierung der Scanzeilen in der Probe). In diesem Fall erfolgt die Schnittrichtung für die streifenförmigen Teilbilder in einem Winkel zu den Scanrichtungen X und Y.

Die Schnittrichtung liegt auch hier im wesentlichen in Kantenrichtung des gescannten Bildes.

Zur Ermittlung des Fehlers des X Scanners erfolgt eine Verschiebung der Teilbilder von Hin- und Rückscan in X Richtung (Richtung des X-Scanners, nicht Richtung der Scanzeilen), zur Ermittlung des Y – Fehlers in Y Richtung (Richtung des X-Scanners, nicht Richtung der Scanzeilen).

Es wird jeweils die jeweilige Korrektur ermittelt und dann aus beiden Werten der Korrekturvektor bestimmt.

#### Variante gedrehter Scan, d.h. Scanwinkel ungleich 0°, 90°, -90° und 180°:

X-Scanner und Y-Scanner bewegen sich schnell und beide Scanner springen ein kleines Stück zwischen den Zeilen.

Wenn beide Scanner mit gleicher Amplitude gleichzeitig loslaufen, läuft der Leuchtpunkt in der Probe nicht von links nach rechts sondern von links unten nach rechts oben (z.B.) --> 45° gedrehter Scan. Wenn der Y-Scanner nur mit halber Amplitude läuft, dann geht der Lichtspot von links unten nach recht halb oben --> ca. 22° Scanwinkel.... Zwischen den gedrehten Scanzeilen springen beide Scanner ein kleines Stück (konstanter Offset der Bewegung überlagert), so dass die nächste Scanzeile neben der letzten liegt. Die Schnittrichtung für die Streifen ist auch hier vorteilhafterweise (?) parallel zum Bildrand, senkrecht zur Richtung der Scanzeilen.

Die Verschieberichtung zur Ermittlung des Fehlers des X-Scanners ist parallel zur Scanrichtung des X-Scanners, d.h. die beiden Teilbilder der geraden und ungeraden Scanzeilen (Hin- und Rückscan) werden zueinander entlang der Richtung im Bild verschoben, die durch Bewegung des X-Scanners vorgegeben ist (Die Richtung entlang der sich der Beleuchtungsfleck in der Probe bewegen würde, wenn der X-Scanner sich alleine bewegen würde).

Die Verschieberichtung zur Ermittlung des Fehlers des Y-Scanners ist parallel zur Scanrichtung des Y-Scanners

Es kann auch sinnvoll sein, zur Ermittlung des zeitlichen Verlaufs der Bildverzerrung das Bild zusätzlich parallel zur Richtung der Scanzeilen zu zerteilen.

Bei gedrehten Scans scannen die Scanner nicht entlang der Scanzeilen, sondern "schräg" durch das Bild. Wesentlich für die Bidir-Abweichungen sind dann die Richtungen beider Scannbewegungen, nicht die Richtung der Scanzeilen.

#### Die Bestimmung der Bidir-Abweichungen geschieht wie folgt:

- Zerschneiden des Bildes in (z.B.) 10 gleich breite Streifen vorzugsweise entlang der langsamen Scanachse (senkrecht zur schnellen Achse schneiden)
- Zerteilen der Streifen in die beiden Teilbilder vom Hinscan und Rückscan (evtl. auffüllen der fehlenden Zeilen mit Mittelwert der benachbarten Zeilen)
- Berechnung der (eindimensionalen) Kreuzkorrelationsfunktionen der beiden
   Teilbilder entlang der beiden Scanrichtungen (Die folgende Auswertung erfolgt für beide Scanrichtungen, um beide Scanner korrigieren zu können)
  - beim Verschieben der beiden Teilstreifen zueinander können natürlich die gesamten Bilddaten genutzt werden, d.h. fehlende Daten im Randbereich der Teilbilder werden aus den Nachbarstreifen genommen
- Auswertung dieser Korrelationsfunktionen:
  - Lage des Maximums: bei dieser Verschiebungslänge passen die beiden Teilbilder am besten zusammen, d.h. diese Verschiebung ist die gewünschte Korrektur der Bidir-Abweichung an der Bild-Position, an der sich der Streifen befindet
  - Halbwertsbreite und Höhe des Peaks: Maß für die Genauigkeit der Messung Die Kreuzkorrelationsfunktion ist z.B. auf die Autokorrelation(en) der beiden Teilbilder normiert, d.h. Korrelation 1 heißt, die beiden Teilbilder stimmen bei dieser Verschiebung exakt überein.
- bei Rotationswinkeln die weniger als (z.B.) 10° von einer Hauptachse eines Scanners abweichen, sollte nur dieser Scanner ausgewertet werden.
   (z.B. beim 0°-Scan kann nur der X-Scanner ausgewertet werden)

- Die Positionen der Peaks der einzelnen Bildstreifen liefern pro Scanrichtung (x,y) eine Kurve mit beispielsweise 10 Stützstellen (Anzahl der Bildstreifen) für die Bidir-Abweichung im Bild.
- Je nach Genauigkeit der Messung (Halbwertsbreite und Höhe des Kreuzkorrelationspeaks) sollten diese Stützstellen vorteilhafterweise mit Wichtungsfaktoren markiert oder, wenn unbrauchbar, verworfen werden.

Die Korrektur der Scanneransteuerung erfolgt vorteilhafterweise über die Koeffizienten der Fourierreihen von den Signalkurven der Scanner-Ansteuersignale.

Die Korrektur der Scanner-Koeffizienten geschieht dann wie folgt:

- Ermittlung des Scanner-Koeffizienten, der die gefundene Abweichungskurve am besten korrigiert
  Korrelation der gemessenen Abweichungskurve mit sin(1f), sin(2f), sin(3f),....
  (welcher Koeffizient liefert maximale Korrelation mit der gemessenen Abweichungskurve?)
- Aus dem Korrelationswert lässt sich der Phasenfehler des Koeffizienten berechnen (große Amplitude der Abweichungskurve = großer Phasenfehler des Koeffizienten) Wenn die Abweichung nur von einem Koeffizienten verursacht wird ist es immer eine Sinuskurve mit Knotenpunkten an den Umkehrpunkten der Scanner (außerhalb des Bildes)
- Korrektur der Phase des Koeffizienten (Amplitude wird vorteilhafterweise nicht verändert um die Linearität der Scannerbewegung langfristig zu erhalten)
- Die Phase des betroffenen Koeffizienten k\u00f6nnte auch nicht vollst\u00e4ndig korrigiert werden, je nach Qualit\u00e4t der Messung (Wichtungsfaktoren, siehe oben)
   Die entg\u00e4ltige Korrektur erfolgt dann z.B. w\u00e4hrend der n\u00e4chsten Scanbilder.
- Auf diese Weise könnte mit jedem Scan (mindestens) ein Koeffizient korrigiert werden. Durch Korrelation der Abweichungskurve mit mehreren Scannerfrequenzen lassen sich in einem Schritt auch mehrere Koeffizienten korrigieren (je nach Genauigkeit der Messwerte)

Im Laufe der Zeit kann dann auf dem Steuerrechner des Mikroskopes ein Parameterfeld entstehen mit Scannerkoeffizienten, die permanent angepasst werden. Die Parameter sind beispielsweise: Speed, Zoom (z.B. Zoom 0.7, 0.8, 1, 2, 4, 8) Wird ein Zwischenzoom benutzt, so kann aus den Nachbarkoeffizienten interpoliert werden, analog können nach einer erfolgten Abweichungsmessung die Nachbarkoeffizienten (auch mit Wichtung) angepasst werden.

Das Parameterfeld auf der Festplatte kann sich vorteilhafterweise sich nur langsam verändern (z.B. gewichtetes Mittel zwischen Tagesmittelwert und jetzigem Wert in den Dateien)

Daneben könnte es ein weiteres relativ schnell veränderliches Parameterfeld geben, dass z.B. auf Temperaturschwankungen während des Tages reagiert.

(Nach Möglichkeit wird nach jedem Bild ausgewertet).

Eine Korrektur der aktiven Koeffizienten könnte auch bei Abweichungen größer als eine vorgegebene Schwelle erfolgen ( beispielsweise vom Nutzer einstellbarer Wert) Dieses Parameterfeld wird ebenfalls aufgezeichnet und gespeichert.

Je nach Schwankungsbreite und Qualität dieser Tages-Parameter könnte beim Beenden des LSM-Programms, das auf der Festplatte gespeicherte Feld angepasst werden (mögliche Parameter für die Wichtung: Schwankungsbreite der gemessenen Abweichungen, Werteanzahl, Betriebsstunden etc).

Die Online-Korrektur kann ausschaltbar sein, d.h. der Nutzer kann die Möglichkeit haben den Mechanismus der automatischen Korrektur der Scanneransteuerung zu aktivieren oder zu unterbinden. Der Original-Kalibriersatz ab Werk kann für Auswertungen der Entwicklung des mechanischen und elektrischen Verhaltens der Scanner dauerhaft als Kopie gespeichert werden. Der Parametersatz auf der Festplatte kann auch rücksetzbar sein (anhand der Originalkalibrierung).

Ein Vergleich des entstandenen Parametersatzes mit dem Original-Satz könnte z.B. zu einer Empfehlung auf dem Bildschirm für den Benutzer führen "Bitte Scanner neu kalibrieren" (Der Schwellwert könnte je nach Scan-Speed unterschiedlich sein). Bei Mehrkanalbildern (während des Scans werden z.B. zu jedem Bildpixel mit mehreren Detektoren unterschiedliche Daten aufgenommen) könnten alle Kanäle getrennt ausgewertet und verglichen werden (die Scannerbedingte Bildverzerrung sollte in allen Bildern gleich sein).

Durch die beschriebene Korrektur ist neben der verbesserten Bidirektionalität auch eine Verbesserung der Linearität möglich, da die Koeffizienten bezüglich ihrer Phase exakt zurecht gerückt werden.

#### Patentansprüche

1.

Verfahren zur Sanneransteuerung in mindestens einer Scanachse in einem Laser-Scanning-Mikroskop,wobei das Scanfeld in Teilbereiche unterteilt wird, wobei ein von einem Hinscan erzeugtes erstes Bild mindestens eines Teilbereiches mit einem von einem Rückscan erzeugten zweiten Bild des Teilbereiches verglichen wird und aus der Abweichung zwischen erstem und zweiten Bild ein Korrekturwert für die Scanneransteuerung bestimmt wird.

2.

Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Scanfeld in Streifen aufgeteilt wird, die die Teilbereiche bilden.

3.

Verfahren nach Anspruch 2, wobei die Schnittrichtung der Streifen parallel zur Bildkante des abgescannten Bildes liegt

4.

Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Längsachse der Streifen bei zeilenweiser Abtastung senkrecht zur Richtung der Scanzeilen des Bildes liegt 5.

Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei für jede Scanachse die Korrelation der Teilbilder bestimmt wird

6.

Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei aus der Korrelation der Teilbereiche Abweichungen ermittelt werden

7.

Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Abweichungen als Stützstellen zu einer Abweichungskurve zusammengefasst werden und diese Abweichungskurve zur Ermittlung einer Korrektur der Scanneransteuersignale verwendet wird.

8.

Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei zur Ermittlung der Korrektur der Scanneransteuerung die Abweichungskurve mit den einzelnen Frequenzanteilen der Scannersteuerung (Sinuskurven) korreliert wird und über die Korrelationswerte Korrekturwerte für die Scannersteuerung ermittelt werden.

9.

Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei Korrekturwerte gemeinsam mit der Uhrzeit der Messung abgespeichert werden

10.

Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei ein Vergleich von zu unterschiedlichen Zeiten aufgenommenen Korrekturwerten erfolgt.

11.

Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei der optisch erfaßte und / oder elektrisch erfaßte Frequenzgang der Scanner mit den ermittelten Korrekturwerten gesteuert oder korrigiert werden

12.

Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Schnittrichtung für die Teilbilder parallel zum einem Bildrand des Scanfeldes liegt

13.

Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Schnittrichtung für die Teilbilder mit einer Scanachse übereinstimmt

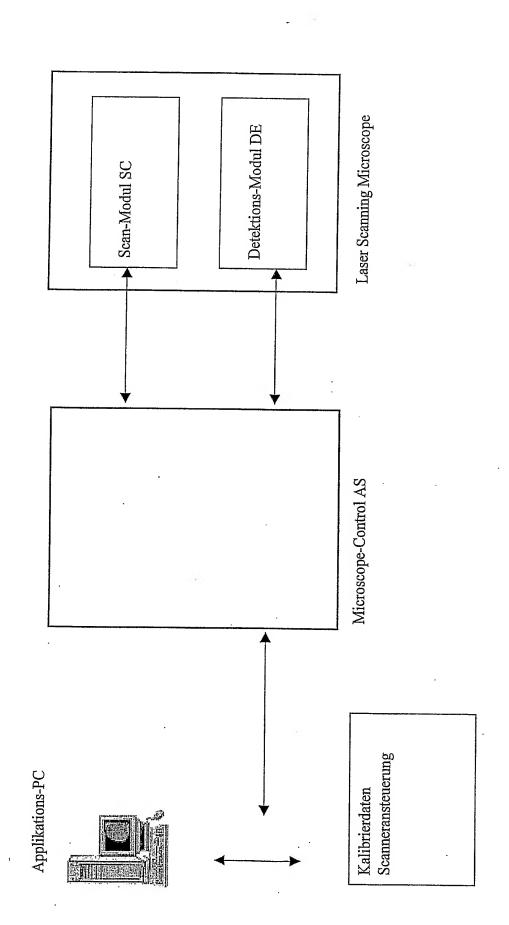
14..

Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Schnittrichtung für die Teilbilder einen Winkel zu mindestens einer Scanachse aufweist 15.

Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei ein Testmuster zur Ermittlung der Korrektur verwendet wird

## Zusammenfassung

Verfahren zur Sanneransteuerung in mindestens einer Scanachse in einem Laser-Scanning-Mikroskop, wobei das Scanfeld in Teilbereiche unterteilt wird, wobei ein von einem Hinscan erzeugtes erstes Bild mindestens eines Teilbereiches mit einem von einem Rückscan erzeugten zweiten Bild des Teilbereiches verglichen wird und aus der Abweichung zwischen erstem und zweiten Bild ein Korrekturwert für die Scanneransteuerung bestimmt wird.



1/4

a)

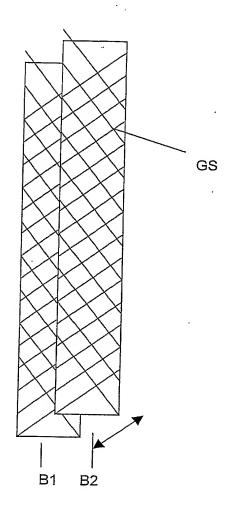
Korrelation der Teilbilder von Hin- und

Korrelation in y-Scanner-Richtung:

b)

Rück-Scan in x-Scanner-Richtung:

(Beispiel Kreuzgitter-Probe, z.B. 20µm-Gitter)



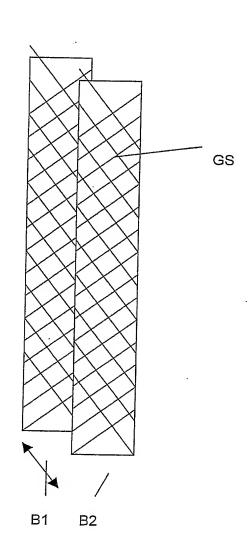
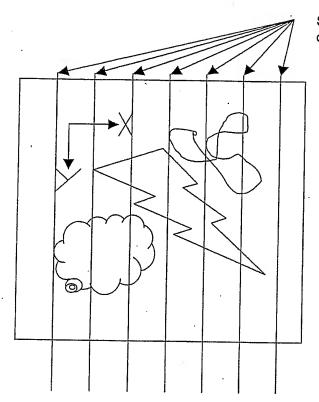
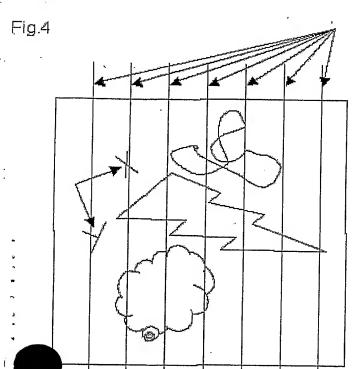


Fig.3

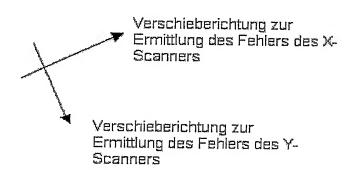


Schnittrichtung für die Streifen

Verschieberichtung zur Ermittlung des Fehlers des X-Scanners



Schnittrichtung für die Streifen



4/4